

УДК 615.453.6; 543.544

## СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ФОРМ АМИНОКИСЛОТ В РЕЖИМЕ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ

А.А. Марьин<sup>1\*</sup>, И.Г. Танцерева<sup>1</sup>, Ю.Г. Чистохин<sup>1</sup>

**Резюме.** Изучена возможность применения инфракрасных спектров диффузного отражения в ближней и средней области для стандартизации и оптимизации технологического процесса изготовления таблетированных форм алифатических аминокислот: аминomásляной, β-аланина, гамма-аминомасляной кислоты. Показана информативность ближней инфракрасной области для нормирования содержания влаги в субстанции, на стадиях технологического процесса, а также в готовой лекарственной форме. В работе проанализирована информативность инфракрасных спектров применительно к таблетированным формам гамма-аминомасляной кислоты, глицина. Получены спектральные данные, позволяющие дифференцировать гомологические аминокислоты: γ-аминомасляную, β-аминопропановую и аминокислотную.

**Ключевые слова:** ГАМК, ближняя инфракрасная спектроскопия, небелковые аминокислоты.

### STANDARDIZATION OF THE AMINO ACIDS TABLETS BY DIFFUSE REFLECTION IR SPECTROSCOPY

А.А. Maryin<sup>1\*</sup>, I.G. Tansereva<sup>1</sup>, Y.G. Chistohin<sup>1</sup>

**Abstract.** The possibility of using the infrared spectra of the diffuse reflection in the near and medium field of standardization and optimization of the technological process of tablet forms of aliphatic amino acids: butyric, β-alanine, γ-aminobutyric acid. Shown near infrared informative to normalize the moisture content of a substance in the stages of the process, as well as in the finished dosage form. The paper analyzed the descriptiveness of the infrared spectra with respect to the tablet form of gamma-aminobutyric acid, glycine. The spectral data to differentiate the homologous amino acids: γ-aminobutyric, beta-aminopropanoic, and glycine.

**Keywords:** gamma-aminobutyric acid, near-infrared spectroscopy, nonprotein amino acid.

1 – ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а

1 – Kemerovo State Medical University, Ministry of Healthcare, 22a, Voroshilova str., Kemerovo, 650056, Russia

\* адресат для переписки:  
E-mail: mfandr@mail.ru  
Тел.: 8 (384) 235 89 12

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно формируется целостный подход при проектировании, разработке, анализе и контроле важнейших характеристик качества сырья и полупродуктов, а также критических параметров качества процесса изготовления с целью обеспечения качества конечного продукта. Это особенно актуально для производства аминокислот и их аналогов, включая небелковые [1].

Интерес к небелковым аминокислотам постоянно растет, особенно в области медицины и фармации. Это связано с различными эффектами, для ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) описано тормозящее действие на центральную нервную систему (седация, антиинсомния), а также антигипертензивный и диуретический эффекты [2]. В настоящее время основным способом получения аминокислот является микробиологический синтез [1]. Так, ГАМК получают несколькими способами, а именно обогащением растительной ткани, микробной ферментацией и биотрансформацией [3]. При производстве таблетированных форм одним из существенных показателей яв-

ляется степень гидратированности (влажности) субстанции. Высокая степень влажности сырья будет приводить к технологическим дефектам, а избыточная сушка – к экономическим затратам и удорожанию производства. С другой стороны, необходимы экспрессные способы идентификации аминокислот для предупреждения и выявления фактов фальсификации (подмены алифатических аминокислот другим видом). Это создаёт предпосылки для внедрения современных неструктурных подходов к оценке качества технологического процесса и конечного продукта. Из широкого разнообразия физико-химических методов для решения указанных проблем видится возможным использование методов спектроскопии в инфракрасной области.

Метод инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием – достаточно устоявшийся и динамично совершенствующийся аналитический метод, который характеризуется экспрессностью, высокой производительностью, неструктурностью, широким диапазоном, с возможностью решения нетривиальных задач [4, 5].

Целью данной работы явилось изучение возможности стандартизации фармакологически значимых аминокислот по спектральным характеристикам в ближней и средней областях инфракрасного спектра в режиме диффузного отражения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

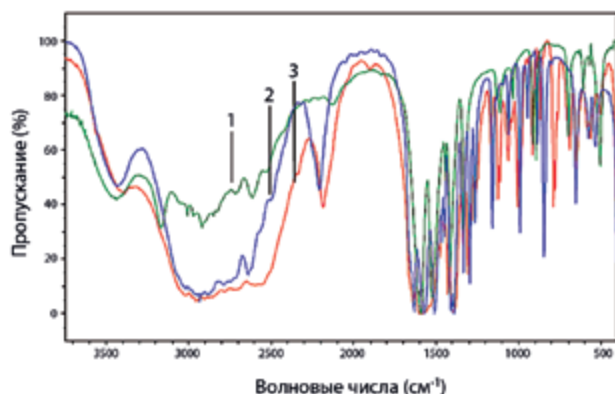
В работе использованы образцы аминокислот фирм Reanal (Венгрия) и Panreac (Испания), а также таблетированные лекарственные формы, приобретённые через розничную аптечную сеть. Калия бромид квалификации для ИК-спектроскопии фирмы Fluka (Германия).

Подготовка проб для анализа: образец массой 2 мг в агатовой ступке перетерли с бромидом калия (200 мг) и изготавливали диск методом прессования с усилением 3000 psi.

Условия получения ИК-спектров: в работе использовали однолучевой интерференционный (с обратным преобразованием Фурье) ИК-спектрометр ФСМ-1202 («Инфраспек», Россия). Параметры записи спектров: диапазон длин волн 7500–400 см<sup>-1</sup>, разрешение 4 см<sup>-1</sup>, циклическая запись с количеством сканов 25. Фоновый спектр получали непосредственно перед записью каждого спектра. Спектры в режиме диффузного отражения получены с помощью приставки ПДО (сер. № 100013). Управление прибором и обработку спектров осуществляли с использованием программы Fspes (версия 4.0.0.2). Высушивание образцов проводилось с использованием вакуумного сушильного шкафа ШСВ-65/3,5 при температуре 70 °С и вакууме при остаточном давлении в рабочей камере 6,6 Па (0,05 мм рт. ст.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассматриваемые в нашем исследовании образцы ГАМК и аминокислот обладают специфичным набором полос поглощения, позволяющий дифференцировать образец по показателю «подлинность» (рисунок 1).



**Рисунок 1.** ИК-спектры образцов в диапазоне 4000–400 см<sup>-1</sup>: аминокислоты (1), β-аланина (2), γ-аминомасляной кислоты (3), выполненных в диске с калия бромидом

Так, на спектрах образцов прослеживаются характерные для алифатических аминопроизводных, и в частности аминокислот, полосы в диапазоне 2200–2000 см<sup>-1</sup>, относящиеся к комбинации антисимметричного деформационного и крутильного колебаний группы NH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Для глицина максимум поглощения составил 2129 см<sup>-1</sup>, для β-аланина – 2204 см<sup>-1</sup>, для ГАМК – 2184 см<sup>-1</sup>. При этом крутильные колебания прослеживаются в области 550–500 см<sup>-1</sup>: для глицина – 505 см<sup>-1</sup>, у β-аланина – 531–538 см<sup>-1</sup>, для ГАМК – 500 см<sup>-1</sup> [6].

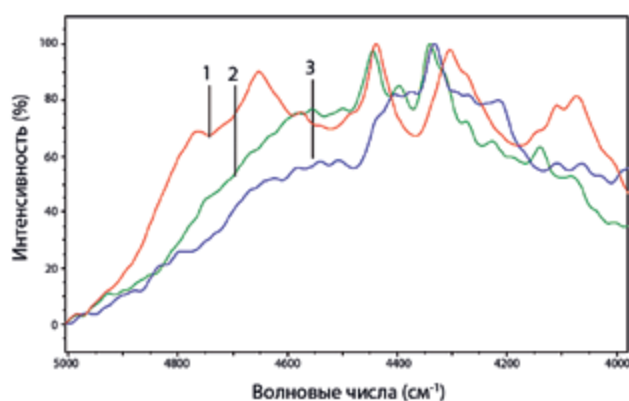
Деформационные (ножничные) колебания N–H первичных аминов наблюдаются в области 1650–1580 см<sup>-1</sup>: для образца ГАМК – 1641 и широкая полоса 1597 см<sup>-1</sup>, для глицина 1611 и 1591 см<sup>-1</sup>. Некоторое смещение в сторону высоких частот объясняется ассоциацией молекул, и в первую очередь такие ассоциации образуются в таблетированной форме. Валентные колебания C–N проявляются в области 1250–1020 см<sup>-1</sup>. Следует отметить, что у изучаемого в нашей работе образца ГАМК в указанном диапазоне присутствуют три полосы поглощения: 1166 см<sup>-1</sup>, дуплетная 1123 см<sup>-1</sup> и 1113 см<sup>-1</sup> и полоса 1064 см<sup>-1</sup>. Для глицина характерна дуплетная полоса 1133 и 1113 см<sup>-1</sup>. При этом положение полос в данной области определяется классом аминопроизводного, а в данном случае зависит от типа замещения α-углеродного атома. Группа NH<sub>3</sub><sup>+</sup> соли первичного амина поглощает в области 1600–1575 см<sup>-1</sup> и 1550–1504 см<sup>-1</sup> и обусловлена асимметричными колебаниями. Наличие полосы 1426 см<sup>-1</sup> у образца ГАМК, видимо, связано с наличием аммониевых солей, образующихся в результате деструкции. Данная полоса является важным критерием оценки доброкачественности лекарственного препарата, а также используемой субстанции.

Анализ технологии процесса определяется как «система для непрерывного анализа и контроля производственных процессов на основе реального времени или быстрого измерения в процессе обработки, качества и функциональных свойств сырья и материалов и процессов в процессе производства для обеспечения качества конечного продукта при завершении процесса» [2]. Для того чтобы обеспечить качество продукции, предложено введение норм, позволяющих обеспечить контроль качества в процессе получения целевого продукта в зависимости от стадии исходного сырья, промежуточных полуфабрикатов и стадий процесса. С учётом указанного метод ближней инфракрасной спектроскопии (БИК) является передовой аналитической технологией, которая совершенствуется, позволяя нормировать промежуточные этапы фармацевтического производства.

Ближней ИК-областью (БИК) называется область спектра, простирающаяся от 3800 см<sup>-1</sup> до границы видимого света. В данной области появляются обертоновые и комбинационные колебания, составные частоты которых приходятся на среднюю ИК-область. Следует отметить, что в БИК-области в силу ангармоничности основных колебаний, которые характерны в первую очередь для легких атомов водорода, проявляются

лишь колебания групп С–Н, О–Н, N–H, S–H и P–H, связи которых колеблются с большой амплитудой [7].

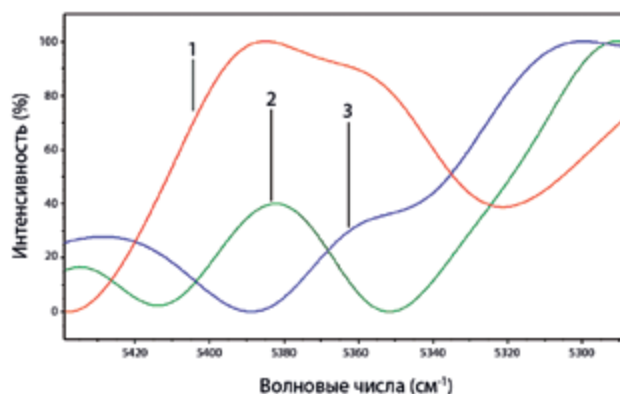
В свою очередь, области БИК-спектров нативных образцов при волновых числах в пределах от 7500 до 4000  $\text{см}^{-1}$ , представленные на рисунке 2, также являются информативными, позволяя идентифицировать аминокислоту. Так, определилось несколько характерных пиков поглощения, которые можно наблюдать для аминокислоты: 4655  $\text{см}^{-1}$ , обусловленный фундаментальным растяжением и деформационным колебанием N–H; и 4446, 4400 и 4304  $\text{см}^{-1}$  в комбинации с фундаментальным растяжением и деформационным колебанием С–Н. Подобные сигналы, обусловленные влиянием  $\text{CH}_2$  и  $\text{NH}_2$ , обнаруживаются ГАМК  $\beta$ -аланина. Но, как можно увидеть из линий тренда, суперпозиция полос основных соединений индивидуальна, обладая отличительными особенностями для каждого соединения.



**Рисунок 2.** БИК-спектр диффузного отражения 5000–4000  $\text{см}^{-1}$  образцов: аминокислоты (1),  $\beta$ -аланина (2),  $\gamma$ -аминонасыщенной кислоты (3)

Другой характерной зоной спектров является область первого обертона, характерная для  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$ , – около 6230–5480  $\text{см}^{-1}$ . Здесь интенсивность сигнала увеличивается по мере увеличения углеродного скелета. Наконец, спектральные изменения, обусловленные 1-м обертоном гидроксильной группы, для глицина и  $\beta$ -аланина соответствуют 6900  $\text{см}^{-1}$ , тогда как для ГАМК характерно некоторое смещение до 6840  $\text{см}^{-1}$ .

Изменения БИК-спектров при сушке образца ГАМК представлено на рисунке 3. График показывает спектры, полученные в процессе сушки для таблетированной массы ГАМК. Спектральные изменения характеризуются сильным поглощением около 5385  $\text{см}^{-1}$ , что соответствует сочетанию основных деформаций растяжения, вибрации О–Н-связи [7]. В процессе сушки значение этой области, соответствующей отклику молекул воды, постепенно уменьшается. Данный факт указывает на то, что БИК может отражать химическую информацию образца, способствуя оптимизации технологического процесса производства.



**Рисунок 3.** Участок БИК-спектра в диапазоне 5430–5290  $\text{см}^{-1}$  образца ГАМК, соответствующий степени гидратированности, где образец: 1 – нативный; 2 – вакуумная сушка 60 мин; 3 – вакуумная сушка 120 мин

Результаты свидетельствуют о том, что метод диффузного отражения БИК ФТ может быть принят в качестве быстрого, объективного и неdestructивного способа прогнозирования качественных и количественных параметров технологического процесса изготовления таблетированных форм аминокислот.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что значения некоторых функциональных групп в режиме диффузного отражения несколько переменны, что требует дополнительных исследований применительно к конкретным объектам. Полученные с использованием метода ближней инфракрасной спектроскопии результаты отражают химическую информацию образца, степень гидратированности, качественную характеристику, что может быть использовано в оптимизации технологического процесса при производстве таблетированных форм аминокислот.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А.С. Сагян. Энантиомерно чистые небелковые аминокислоты. Способы получения. – М.: Наука. 2010. 342 с.
2. M. Diana, J. Quílez, M. Rafecas. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review // Journal of Functional Foods. 2014. V. 10. P. 407–420.
3. G. Ding, Y. Hou, J. Peng, Y. Shen. On-line near-infrared spectroscopy optimizing and monitoring biotransformation process of  $\gamma$ -aminobutyric acid // J. Pharm. Anal. 2016. V. 6. P. 171–178.
4. В.П. Кузнецов, Е.В. Салтанова, А.С. Сухих, Ю.А. Фадеев. ИК-спектроскопическое исследование сегнетоэлектрических свойств на примере кроконовой кислоты // Ползуновский вестник. 2013. № 1. С. 52–54.
5. И.В. Потапов, А.С. Сухих. Окислительно-восстановительные свойства комплексных соединений фторхинолонов с ионами меди (II) // Фундаментальная и клиническая медицина. 2016. Т. 1. № 1. С. 39–45.
6. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений / Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2011. 557 с.
7. P.K. Ghosh, D.S. Jayas. Use of spectroscopic data for automation in food processing industry. Sens and Instrumen Food Qual. 2009. V. 3. P. 3–11.